


Title: **JP2000074922A2: OUTER MEMBRANE PROTEIN F OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

Country: **JP Japan**
Kind: **A2 Document Laid open to Public inspection**

Inventor(s): **DOMDEY HORST DR
LOTTSPREICH FRIEDRICH DR
VON SPECHT BERND-ULRICH
DUCHENE MICHAEL DR**

Applicant/Assignee: **CHIRON BEHRING GMBH & CO**
 News, Profiles, Stocks and More about this company

Issued/Filed Dates: **March 14, 2000 / June 3, 1988**

Application Number: **JP1988010260701**

IPC Class: **G01N 33/577; C12Q 1/68; G01N 33/569; C07K 14/21; C12N 15/09;**

Priority Number(s): **June 3, 1987 DE1987003718591**

Abstract:



Problem to be solved: To detect an infection due to pseudomonas aeruginosa by providing the outer membrane protein F of pseudomonas aeruginosa with an amino acid sequence, DNA to code for the outer membrane protein F, antibodies to DNA, and a diagnosis assistant and compositions containing them.

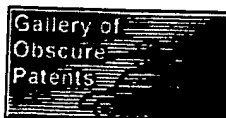
Solution: Compositions are based on the complete specificity of genes to OMPF from P.aeruginosa, serotype 6, and ATCC33354. A DNA sequence and an amino acid sequence derived from this are shown in Fig. The amino acid sequence is arranged below the one-letter code below associated triplets, and signal peptides are emphasized by italic letters. The protein of an outer membrane is obtained from a Pyrenomycete stock, and OMPF is concentrated from it by HPLC. An initial sequence is that of an amino terminal and is that of a protein piece obtained by cutting by trypsin. These oligopeptides and DNA sequence to code for are derived to synthesize oligodexynucleotide.

COPYRIGHT: (C)2000,JPO

Family: **none**

Other Abstract Info: **none**

Foreign References: **No patents reference this one**



Nominate this for the Gallery...



[View Image](#)

[1 page](#)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-74922

(P2000-74922A)

(43) 公開日 平成12年3月14日 (2000.3.14)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
G 0 1 N 33/577		G 0 1 N 33/577	B 4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/68		C 1 2 Q 1/68	Z 4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/569		G 0 1 N 33/569	D 4 H 0 4 5
// C 0 7 K 14/21		C 0 7 K 14/21	
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00	Z N A A
審査請求 有 請求項の数 4 O L (全 9 頁)			

(21) 出願番号 特願平10-260701
(62) 分割の表示 特願昭63-137206の分割
(22) 出願日 昭和63年6月3日 (1988.6.3)

(31) 優先権主張番号 P 3 7 1 8 5 9 1 . 8
(32) 優先日 昭和62年6月3日 (1987.6.3)
(33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

(71) 出願人 597125955
カイロン ベーリング ゲーエムベーハー
アンド カンパニー
ドイツ国 マールブルグ 35006, ポスト
ファッハ 1630, エミル フォン ベー
リング シュトラッセ 71
(72) 発明者 ホルスト, ドムディ
ドイツ連邦共和国ノイリート, ファザー
ネンウェーク, 6
(74) 代理人 100078282
弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シュードモナス・アエルギノザの外部膜タンパク質 F

(57) 【要約】

【課題】 シュードモナス・アエルギノザによる感染を
検出するための手段を提供すること。

【解決手段】 本発明により、シュードモナス・アエル
ギノザの外部膜タンパク質 F、それをコードする D N
A、およびそれに対する抗体、ならびにそれらを含む診
断助剤および組成物が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 表1に示したアミノ酸配列を有するシュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) の外部膜タンパク質F (OMP F) または該タンパク質の免疫原性部分配列を抗原として用いて得られたポリクローナルまたはモノクローナル抗体並びに対応する血清を含有する、シュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) の感染を検出するための診断助剤。

【請求項2】 OMP Fをコード化し、表1に示されたDNA配列(コード化鎖)を有するDNAを全部または部分的に、或いはそれから得られるヌクレオチド配列を含有する、シュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) の感染を検出するための診断助剤。

【請求項3】 リンパ球を誘発して抗体を産生するための、表1に示したアミノ酸配列を有するシュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) の外部膜タンパク質F (OMP F) または該タンパク質の免疫原性部分配列を含有する組成物。

【請求項4】 その様なタンパク質に対する抗体の産生に対してリンパ球を試験するための、表1に示したアミノ酸配列を有するシュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) の外部膜タンパク質F (OMP F) または該タンパク質の免疫原性部分配列を含有する組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、シュードモナス・アエルギノザの外部膜タンパク質F、それをコードするDNA、およびそれに対する抗体、ならびにそれらを含む診断助剤および組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】シュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) は至る所に存在する微生物であり、人医学における「問題微生物」として知られている。それは主として衰弱した患者に感染し、しばしば抗生物質治療による抑制が困難である。これが、集中介護装置(intensive care units)及び対麻痺にある患者及び火傷にあった或いは火傷の危険に曝された人々例えば消防士及び鉄鋼労働者が特別の危険にあることの原因である。

【0003】W. A. ウッドラフ等(W. A. Woodruff et al., J. Bacteriol., 167(1986)473-479)は詳細には規定されてないP. アエルギノザPAO1を出発菌株として用いるE. コリ(*E. coli*)中における外部膜タンパク質F (OMP F、ポリンF)の発現を記載している。クローン化されたDNA配列は極めて大雑把な制限酵素地図によってのみ特性化されているにすぎず、DNA配列或はアミノ酸部分配列は述べられておらず、又クローン化物質の認められた寄託所における寄託について何も述べられていない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、シュードモナス・アエルギノザの外部膜タンパク質F、それをコードするDNA、およびそれに対する抗体、ならびにそれらを含む診断助剤および組成物を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明によれば、表1に示したアミノ酸配列を有するシュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) の外部膜タンパク質F (OMP F) が提供される。

【0006】本発明によれば、上記のOMP Fの免疫原性部分配列が提供される。

【0007】本発明によれば、OMP Fをコード化し、表1に示されたDNA配列(コード化鎖)を有するDNAが提供される。

【0008】本発明によれば、上記のDNA或いはその免疫原性部分を含有するベクター及びDNA構造体が提供される。

【0009】本発明によれば、上記のベクター或いはDNA構造体を含有する原核或いは真核細胞が提供される。

【0010】本発明によれば、上記のOMP F及びタンパク質の免疫原性部分配列を抗原として用いて得られたポリクローナル及びモノクローナル抗体並びに対応する血清が提供される。

【0011】本発明によれば、上記の抗体を含有する、シュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) の感染を検出するための診断助剤が提供される。

【0012】本発明によれば、上記のヌクレオチド配列を全部或いは部分的に或いはそれから得られるヌクレオチド配列を含有する、シュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*) の感染を検出するための診断助剤が提供される。

【0013】本発明によれば、リンパ球を誘発して抗体を産生するための上記のタンパク質を含有する組成物が提供される。

【0014】本発明によれば、上記のタンパク質に対する抗体の産生に対してリンパ球を試験するための上記のタンパク質を含有する組成物が提供される。

【0015】

【発明の実施の形態】本発明はP. アエルギノザ、セロタイプ6、ATCC33354からのOMP Fに対する遺伝子の完全な特性化に基づくものである。DNA配列及びそれに由来するアミノ酸配列は表1に示されており、アミノ酸配列は関連トリプレットの下に1文字暗号の下に配列されており、シグナルペプチドはイタリック文字で強調されている。

【0016】この目的のために、外部膜のタンパク質は核菌株から得られ、それらからOMP FがHPLCにより濃縮された。初期配列はアミノ末端のものであり、ト

リブシンによる切断により得られたタンパク質断片のものであった。各種これらのオリゴヌクレオチド類とコード化するDNA配列が演繹され、これらのオリゴヌクレオチドが化学的に合成された。更にゲノムDNAを菌株から単離し、生成し、制限酵素S_{au}3Aで部分的に消化した。約15～20kbのDNA断片を濃縮し、λファージEMBL3 [A. -M. フリッシュアウフ等(A. M. Frischauf et al.) J. Mol. Biol. 170(1983)827-842; R. W. ヘンドリックス等(R. W. Hendrix et al.) (編) Lambda II, Cold Spring Harbor Laboratory Press(1983)]中にクローン化した。この様にして得られた遺伝子バンクを合成オリゴデオキシヌクレオチド類を用いて相補的配列のスクリーニングを行った。OMP Fに対する遺伝子は陽性反応を用いて見出されたファージクローンの一つからの15kb断片上に見出された。遺伝子を2.5kb Pst I断片に局所化することはこの断片及び見出されたその他の断片上に行うことが可能であった。しかしながら、この断片は遺伝子生成物が明らかに宿主細胞に対して毒性を有するために高コピー数のベクターにクローニングすることができなかった。従って遺伝子を、約500bpの重複領域を有する二つの重複断片にサブクローン化した。OMP F遺伝子と隣接領域のDNA配列をこれらの二つのサブクローンから決定した。遺伝子の両DNA鎖を完全に配列決定した(Sanger法による)。得られたDNA配列に対応するアミノ酸配列を推定した。タンパク質のトリプシン切断により得られた全てのオリゴペプチド類のアミノ酸配列を割当てることが明確に可能であった。OMP F mRNAの5'末端はmRNAのS1より分析及び逆転写により決定された。

【0017】この遺伝子の特性化は今やOMP F及びこのタンパク質の免疫原性部分配列をワクチンの製造に使用するために必要な量及び純度で調製することを可能にする。従って、本発明は表1に示されたアミノ酸配列を有するOMP F、それをコード化するDNA、表1に示されたタンパク質コード化鎖、OMP Fの免疫原性部分配列、OMP F及びタンパク質の免疫原性部分配列を用いて得られたポリクローナル及びモノクローナル抗体及び対応する血清、並びにその様な抗体或いは対応するヌクレオチド配列を含有する診断助剤及びその様な診断剤を用いる診断方法に関する。

【0018】更に、本発明は人モノクローナル抗体を用いる受動的免疫化方法を開示するものである。従って、本発明は又リンパ球を誘発して対応するモノクローナル抗体を産生するための及びリンパ球をその様な抗体の産生に試験するための本発明により得られた抗原の使用にも関するものである。

【0019】血清或いは抗体の処理、精製、免疫化及び取得はそれ自体公知の方法により行うことができる。例えば、M. E. ギレランド等(M. E. Gilleland et al.

1.), Infection and Immunity 44 No.1(1984年4月)49-54; R. E. W. ハンコック等(R. E. W. Hancock et al.), J. Infectious Diseases 149 No. 2 (1984年2月)、220-226; S. サワダ等、J. Infectious Diseases 150 No.4(1984年10月)570-576を参照。

【0020】以下の例により本発明を詳細に説明する。特に断りのない限り、部数及びパーセントデータは重量基準である。

【0021】

【実施例】例1:

OMP F及びトリプシン処理断片の単離

シュードモナス・アエルギノザATCC 33354の外部膜タンパク質をミズノ及びカゲヤマの方法(J. Biochem. 86, 979-989, 1987年)により単離する。細菌培養物を成長の後期対数期に採取し、10mM Naリン酸(pH7.2;「崩壊緩衝液」)に懸濁し、ホモジナイザー(^RWaring blender)中でガラスビーズにより4℃で5分間崩壊する。細胞壁を100,000×gの遠心分離により4℃で60分間ペレット化し、次いで崩壊緩衝液で2回洗浄する。400mlのSDS緩衝液(2% SDS, 10%グリセロール, 10mMトリス-HCl, pH7.8)をシュードモナス各150g湿潤重量に対してペレットに添加し、混合物を30℃で60分間攪拌する。それを次いで100,000×gで60分間遠心分離する。沈殿を再びSDS緩衝液の半量で抽出し、再び遠心分離する。可溶性画分を廃棄する。不溶性沈殿を300mlのNaCl/SDS緩衝液(2% SDS, 10%グリセロール, 0.1M NaCl, 10mM トリス-HCl, pH7.8)と30℃で60分間攪拌する。混合物を次いで100,000×gで25℃において60分間遠心分離する。ペレットを4℃で二重蒸溜H₂Oで2回洗浄する。不溶画分は主としてタンパク質F及びH₂、及び少量のタンパク質Iを含有する。

【0022】1mgの外部膜タンパク質を1mlの20%蟻酸/6M尿素中に溶解し、20%蟻酸中の150μl部分内のTSK3000(LKB)上でクロマトグラフィを行なう(流速1ml/分)。これらの条件下においてタンパク質画分中に得られた物質をプールし、SDSゲル電気泳動中において分子量でOMP Fに対応する単一バンドを示す。

【0023】この物質を凍結乾燥し、200μlの0.1Mトリス-HCl(pH8.0)中に取り、20μgのトリプシン-TRCK(N-トシル-L-フェニアラニクロロメチルケトンで処理)(Cooper Biochemical GmbH)により37℃で18時間切断する。切断混合物を蟻酸でpH3.5に調整し、逆相高圧液体クロマトグラフィにより分別する。

クロマトグラフィ条件:

カラム:^RVydac TPRP-18(10μm)、250×4mm(Chrompack)

溶媒系：

溶媒A：水中0.1% (V/V) トリフルオロ酢酸 (Fluka、配列分析用)

溶媒B：アセトニトリル中0.1% (V/V) トリフルオロ酢酸 (E. Merck, ^RLickrosolv)

流速：1.5 ml/分

室温

得られたペプチド断片のいくつかをアミノ酸分析及び配列分析において特性化する。幾つかの得られたピーク画分を0.1%トリフルオロ酢酸中においてTSK2000上で再クロマトグラフ化し、次いで気相配列決定器(Applied Biosystems 470A)中で分析する。アミノ酸のフェニルヒダントイン誘導体をアイソクラチックHPLCシステム(Lottspeich, J. Chromatography 326, 321-327, 1985年)を用いて同定した。

【0024】例2：

OMP F DNAの単離及び特性化

シュードモナス・アエルギノザ遺伝子バンクの構築：λEMBL3アームをマニアティス等(Maniatis et al., Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Publications 1982)により記載されているようにして調整する。P.アエルギノザDNAを500 mlの培養液[ロドリゲス及びテイト(Rodriguez and Tait), 組換えDNA技術, Addison-Wesley, 1983]から単離する。20×30 μgのDNAを部分的に制限酵素Sau3Aで切断し、スクロース勾配遠心分離(マニアティス等、上記参照)により分別する。15~20 kbの大きさの断片をλEMBL3アームで連結する(マニアティス等、上記参照)。この連結DNAをファージ粒子(Amersham)中に

包装する。2×10⁶個の組換えファージがDNAのμg当り得られる。

【0025】遺伝子バンクのOMP F配列のスクリーニング：組換えファージをNM539細菌芝地上に500 pfuの密度で培養する。ファージブランクをベントン及びデービス(Benton and Davis)の方法(Science 196, 180-182, 1977年)によりナイロン膜に移す。ペプチド配列NLADFMK及びNMKNADに従って合成されたオリゴヌクレオチド類5' AAC/TC/TTA/GGCC/TGAC/TTTC/TATGAA3' 及び5' TCNGCA/GTTC/TTTCATA/GAA3' によるハイブリダイゼーションの結果2500個の組換えファージブランクから単離された6個の陽性の候補者が得られた。

【0026】OMP F遺伝子及びその隣接領域の配列分析：単離ファージの一つを大規模(1 l)培養し、DNAをこれから調製する(マニアティス等、上記参照)。後者を制限酵素Sal I及びSau3Aで切断する(部分的)。得られた制限酵素断片をpUC18及びpUC19にショットガンサブクローニングする[ヤニッシュペロン等(Yanisch-Perron et al.), Gene 33, 103-119, 1985年]。プラスミドDNAをハイブリダイゼーション-陽性クローンから単離し、及び更にサブクローニング及びExo III及びExo VII消化(ヤニッシュペロン等、上記参照)後、チェン及びシーブルグ(Chen and Seeburg, DNA 4, 165-170, 1985年)の方法により配列決定する。

【表1】

GCCACCCAAGTTGTGGCGTGATTGTTGGACAACCTAACTGACCATCAAGATGGGGATTAA
 CGGATGAAACTGAAGAACACCTTAGGCGTTGTCATCGGCTCGCTGGTTGCCGCTTCGGCA
 ATCAACGCCCTTCGCCAGGGCCAGAACTCGGTAGAGATCGAAGCCTTCGGCAAGCGCTAC
 TTCACCGACAGCGTTCGCAACATGAAGAAGCTGACCTGTACGGCGGCTCGATCGGCTAC
 TTCCTGACCGACGAGCTCGAGCTGGCTCTGTCTACGGTGAGTACCGATGTTCTGGTGGC
 ACCTACGAAACCGCAACAAGAAGGTCCATGGCAACCTGACCTCCCTGGACGGCATCTAC
 CACTTCGGTACCCCGGGCGTAGGTCTCGGCTCCGTACGTGTGGTGGTCTGGCTCACCAG
 AACATCACCAACATCAACAGCGACAGCCAAAGGCGTCAGCAGATGACCATGGCCAAACATC
 GCGCGTGGTCTGAAGTACTACTTCACCGAGAACTICTTCGCCAAGGCCAGCCTCGACGGC
 CAGTACGGCTGGAGAAGCGTGACAAACGGTCACCGGGTGAGTGGATGGCTGGCTGGG
 GTGCGCTTCAACTTCGGTGGTTCCGAAAGCGCTCGGCTCGGCAACCGTTGCGGACGTT
 TGCTCGGACTCGGACAACGACGGCTCTCGGACAACGTGACAAAGTCCCGGACACCCCG
 GCCAAGTACCGCTTACGCAACCGCTGCGCGGCTGTCGCGGAAGTCTGACGCTACAG
 CTGGACGTGAAGTTCGACTTCGACAAGTCCAAAGGTCAAAGAGAACAGCTACGCTGACATC
 AAGAACCTGGCGGACTTCATGAAGCAGTACCGGCTCCACTTCCACCACCGTTGAAGGTAT
 ACCGACTCGGTCGGTACCGACGCTTACAACCAAGCTGTCCGAGCGTGTGCCAACGCC
 GTTCGTGACGTACTGGTCAACGAGTACGGTGTGGAAGGTGGTGGCTGAACGCTGTCCGT
 TACGGCGAGTCCCGGCGGTTGCCGACAACGCCACCGCTGAAGGCCGCGCTATCAACCGT
 CGCGTTGAAGCCGAAGTAGAAGCCGAAGCCAAGTAATCGGCTGAGCCTTCAAAGAAAAAC
 CGGCCCAGGCGCGGTTTTCTTTCCTTGGCAAAAAGACCGCTCGTCAGGCGCTCAGGGAAA
 CCGGTTGCGACACGATGCCCGGGGCCACTTCGCGGATCTGGGTCGACCTGCAG

【0027】例3:

OMP Fの発現

OMP FのE. コリにおける発現は、構造遺伝子とその自らのプロモータの制御下の中コピー (pBR322) 或いは高コピー (pUCプラスミド) 上に存在する場合には細菌に対して毒性を示すため、構造遺伝子は先ず誘導性プロモータの制御下におかれる。プロモータ及び構造遺伝子の5' -末端部分を含有するOMP F遺伝子の部分断片はSal I -切断M13mp19二本鎖DNA (ヤニッシュペロン、上記参照) におけるSal I

I制限酵素断片として連結され、標準条件下に用いられて [ハナーン(Hanahan)、J. Mol. Biol. 166, 557-580, 1983年]、E. コリJM109を形質転換する (ヤニッシュペロン等、上記参照)。ファージが形質転換細菌の5ml 液体培養液からの上澄液から単離され、一本鎖DNAを調製するために用いられる。ニューマン等 (Newman et al., Cell 42, 335-344, 1985年) の方法をオリゴデオキシヌクレオチドの助けにより使用して、ATG翻訳開始コドンの直前にEcoRI制限酵素切断部位を導入するためにこの一本鎖DNA上に目標とする

突然変異誘発を行う、即ち配列ATTTAACGGATG (表1のヌクレオチド類55~66) を配列ATTGAATTCATGに形質転換する。この構造遺伝子の5' 末端部分を今度はこの新しい構築物から切出し、誘発性tacプロモータ [ドボワール等(de Boer et al.) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 21以降、1983年] の制御下におく。この目的のために、EcoRI-Sal I断片をベクターpkk223-3 (Pharmacia) のEcoRI及びSal Iの断片部位中に連結する。このクローン化された中間体をSal I及びPst Iで切断し、ターミネータ領域を含むOMP F構造遺伝子の残存部分をSal I-Pst I断片としてこれらの切断部位中に挿入する。このOMP F構造遺伝子は今や誘発性tacプロモータの制御下にある。IPTG (イソプロピルβ-D-チオガラクトシド) を形質転換細胞の培養液 (JM105, ヤニッシュペロン等、上記参照) に添加すると、tacプロモータの抑制解除となり、従ってOMP Fの発現の誘発を生ずる。

【0028】例4:

抗血清の調製

その医学履歴がアレルギー、糖尿病、免疫不全病、貧血
 或いは皮膚病を示さない健康な成人を異種的に発現され
 たOMP F或いはその部分配列により免疫化する。ワク
 チン化は1日目、8日目及び15日目に行なう。最終注
 射後、3週間後に血液をボランティアの候補者から採取
 し、B型肝炎表面抗原及びH I V抗原の試験を行なう。
 陰性反応の供与プラズマのみがプールに入り、それは画
 分に分割され、制御された殺菌条件下に包装される。

【0029】例5：

モノクローナル抗体の調製

フロイントのアジュバント或いはA l (OH)₃中の精
 製OMP F或いはOMP F部分ペプチドをB a l b /
 cマウスの腹腔内に注射する。6週間後、溶解抗原の
 「ブースター」を与えた。抗体価をE L I S Aにより
 1週間後に検定する。免疫応答が不十分な場合には更に
 注射を与える。細胞融合の3日前に10 μ g の溶解抗原

の静脈内「ブースター」をマウスに与える。脾臓細胞を
 N S 1細胞と標準的方法〔ケーラー及びミルシュタイン
 (Kohler and Milstein)〕により融合した。H A T培地
 中で選択後、個々のコロニーはマイクロウェル中で育成
 し、それらの培養上澄液を次いでE L I S AにおけるO
 M P Fに対する抗体の検定を行なう。陽性のコロニーを
 サブクロニングする。培養上澄液及びB a l b / cマ
 ウス内に誘発された腹水から得られた抗体を通常の生化
 学的方法により精製し、特性化する。

【0030】

【発明の効果】本発明により、シュードモナス・アエル
 ギノザの外部膜タンパク質F、それをコードするDN
 A、およびそれに対する抗体、ならびにそれらを含む診
 断助剤および組成物が提供される。

【0031】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

```

<110> Chiron Behring GmbH & Co.
<120> Outer membrane protein F of Pseudomonas aeruginosa
<150> JP 63-137206
<151> 1988-06-03
<160> 2
<170> PatentIn Ver. 2.0
<210> 1
<211> 1253
<212> DNA
<213> Pseudomonas aeruginosa
<220>
<221> CDS
<222> (64)..(1113)
<400> 1
gccacccaag ttgtgcggtg attgttgac aactaactga ccatcaagat ggggatttaa 60
cgg atg aaa ctg aag aac acc tta ggc gtt gtc atc ggc tcg ctg gtt 108
Met Lys Leu Lys Asn Thr Leu Gly Val Val Ile Gly Ser Leu Val
1 5 10 15
gcc gct tcg gca atg aac gcc ttc gcc cag ggc cag aac tcg gta gag 156
Ala Ala Ser Ala Met Asn Ala Phe Ala Gln Gly Gln Asn Ser Val Glu
20 25 30
atc gaa gcc ttc ggc aag cgc tac ttc acc gac agc gtt cgc aac atg 204
Ile Glu Ala Phe Gly Lys Arg Tyr Phe Thr Asp Ser Val Arg Asn Met
35 40 45
aag aac gct gac ctg tac ggc ggc tcg atc ggc tac ttc ctg acc gac 252
Lys Asn Ala Asp Leu Tyr Gly Gly Ser Ile Gly Tyr Phe Leu Thr Asp
50 55 60
gac gtc gag ctg gct ctg tcc tac ggt gag tac cac gat gtt cgt ggc 300
Asp Val Glu Leu Ala Leu Ser Tyr Gly Glu Tyr His Asp Val Arg Gly
65 70 75
acc tac gaa acc ggc aac aag aag gtc cat ggc aac ctg acc tcc ctg 348
Thr Tyr Glu Thr Gly Asn Lys Lys Val His Gly Asn Leu Thr Ser Leu
80 85 90 95

```

gac gcc atc tac cac ttc ggt acc ccg ggc gta ggt ctg cgt ccg tac 396
 Asp Ala Ile Tyr His Phe Gly Thr Pro Gly Val Gly Leu Arg Pro Tyr
 100 105 110
 gtg tcg gct ggt ctg gct cac cag aac atc acc aac atc aac agc gac 444
 Val Ser Ala Gly Leu Ala His Gln Asn Ile Thr Asn Ile Asn Ser Asp
 115 120 125
 agc caa ggc cgt cag cag atg acc atg gcc aac atc ggc gct ggt ctg 492
 Ser Gln Gly Arg Gln Gln Met Thr Met Ala Asn Ile Gly Ala Gly Leu
 130 135 140
 aag tac tac ttc acc gag aac ttc ttc gcc aag gcc agc ctc gac ggc 540
 Lys Tyr Tyr Phe Thr Glu Asn Phe Phe Ala Lys Ala Ser Leu Asp Gly
 145 150 155
 cag tac ggc ctg gag aag cgt gac aac ggt cac cag ggt gag tgg atg 588
 Gln Tyr Gly Leu Glu Lys Arg Asp Asn Gly His Gln Gly Glu Trp Met
 160 165 170 175
 gct ggc ctg ggc gtc ggc ttc aac ttc ggt ggt tcg aaa gcc gct ccg 636
 Ala Gly Leu Gly Val Gly Phe Asn Phe Gly Gly Ser Lys Ala Ala Pro
 180 185 190
 gct ccg gaa ccg gtt gcc gac gtt tgc tcc gac tcc gac aac gac ggc 684
 Ala Pro Glu Pro Val Ala Asp Val Cys Ser Asp Ser Asp Asn Asp Gly
 195 200 205
 gtc tgc gac aac gtc gac aag tgc ccg gac acc ccg gcc aac gtc acc 732
 Val Cys Asp Asn Val Asp Lys Cys Pro Asp Thr Pro Ala Asn Val Thr
 210 215 220
 gtt gac gcc aac ggc tgc ccg gct gtc gcc gaa gtc gta cgc gta cag 780
 Val Asp Ala Asn Gly Cys Pro Ala Val Ala Glu Val Val Arg Val Gln
 225 230 235
 ctg gac gtg aag ttc gac ttc gac aag tcc aag gtc aaa gag aac agc 828
 Leu Asp Val Lys Phe Asp Phe Asp Lys Ser Lys Val Lys Glu Asn Ser
 240 245 250 255
 tac gct gac atc aag aac ctg gcc gac ttc atg aag cag tac ccg tcc 876
 Tyr Ala Asp Ile Lys Asn Leu Ala Asp Phe Met Lys Gln Tyr Pro Ser
 260 265 270
 act tcc acc acc gtt gaa ggt cat acc gac tcc gtc ggt acc gac gct 924
 Thr Ser Thr Thr Val Glu Gly His Thr Asp Ser Val Gly Thr Asp Ala
 275 280 285
 tac aac cag aag ctg tcc gag cgt cgt gcc aac gcc gtt cgt gac gta 972
 Tyr Asn Gln Lys Leu Ser Glu Arg Arg Ala Asn Ala Val Arg Asp Val
 290 295 300
 ctg gtc aac gag tac ggt gtg gaa ggt ggt cgc gtg aac gct gtc ggt 1020
 Leu Val Asn Glu Tyr Gly Val Glu Gly Gly Arg Val Asn Ala Val Gly
 305 310 315
 tac ggc gag tcc cgc ccg gtt gcc gac aac gcc acc gct gaa ggc cgc 1068
 Tyr Gly Glu Ser Arg Pro Val Ala Asp Asn Ala Thr Ala Glu Gly Arg
 320 325 330 335
 gct atc aac cgt cgc gtt gaa gcc gaa gta gaa gcc gaa gcc aag 1113
 Ala Ile Asn Arg Arg Val Glu Ala Glu Val Glu Ala Glu Ala Lys
 340 345 350
 taatcggtg agccttcaaa gaaaaaccgg cccagggcgg gtttttttt gcctggaaaa 1173
 agaccgctcg tcaggcgctc agggaaaccg gttgcgacac gatgcgcgg gccacttcgc 1233

<;210>; 2

<;211>; 350

<;212>; PRT

<;213>; *Pseudomonas aeruginosa*

<;400>; 2

Met Lys Leu Lys Asn Thr Leu Gly Val Val Ile Gly Ser Leu Val Ala
 1 5 10 15
 Ala Ser Ala Met Asn Ala Phe Ala Gln Gly Gln Asn Ser Val Glu Ile
 20 25 30
 Glu Ala Phe Gly Lys Arg Tyr Phe Thr Asp Ser Val Arg Asn Met Lys
 35 40 45
 Asn Ala Asp Leu Tyr Gly Gly Ser Ile Gly Tyr Phe Leu Thr Asp Asp
 50 55 60
 Val Glu Leu Ala Leu Ser Tyr Gly Glu Tyr His Asp Val Arg Gly Thr
 65 70 75 80
 Tyr Glu Thr Gly Asn Lys Lys Val His Gly Asn Leu Thr Ser Leu Asp
 85 90 95
 Ala Ile Tyr His Phe Gly Thr Pro Gly Val Gly Leu Arg Pro Tyr Val
 100 105 110
 Ser Ala Gly Leu Ala His Gln Asn Ile Thr Asn Ile Asn Ser Asp Ser
 115 120 125
 Gln Gly Arg Gln Gln Met Thr Met Ala Asn Ile Gly Ala Gly Leu Lys
 130 135 140
 Tyr Tyr Phe Thr Glu Asn Phe Phe Ala Lys Ala Ser Leu Asp Gly Gln
 145 150 155 160
 Tyr Gly Leu Glu Lys Arg Asp Asn Gly His Gln Gly Glu Trp Met Ala
 165 170 175
 Gly Leu Gly Val Gly Phe Asn Phe Gly Gly Ser Lys Ala Ala Pro Ala
 180 185 190
 Pro Glu Pro Val Ala Asp Val Cys Ser Asp Ser Asp Asn Asp Gly Val
 195 200 205
 Cys Asp Asn Val Asp Lys Cys Pro Asp Thr Pro Ala Asn Val Thr Val
 210 215 220
 Asp Ala Asn Gly Cys Pro Ala Val Ala Glu Val Val Arg Val Gln Leu
 225 230 235 240
 Asp Val Lys Phe Asp Phe Asp Lys Ser Lys Val Lys Glu Asn Ser Tyr
 245 250 255
 Ala Asp Ile Lys Asn Leu Ala Asp Phe Met Lys Gln Tyr Pro Ser Thr
 260 265 270
 Ser Thr Thr Val Glu Gly His Thr Asp Ser Val Gly Thr Asp Ala Tyr
 275 280 285
 Asn Gln Lys Leu Ser Glu Arg Arg Ala Asn Ala Val Arg Asp Val Leu
 290 295 300
 Val Asn Glu Tyr Gly Val Glu Gly Gly Arg Val Asn Ala Val Gly Tyr
 305 310 315 320
 Gly Glu Ser Arg Pro Val Ala Asp Asn Ala Thr Ala Glu Gly Arg Ala
 325 330 335
 Ile Asn Arg Arg Val Glu Ala Glu Val Glu Ala Glu Ala Lys
 340 345 350

フロントページの続き

(72)発明者 フリードリッヒ, ロットシュパイヒ
ドイツ連邦共和国ノイリート, ドロッセ
ルウェーク, 1
(72)発明者 ベルトーウルリッヒ, フォン, シュ
ベヒト
ドイツ連邦共和国アムバッハ, アム,
ワルトウェーク (番地なし)

(72)発明者 ミヒャエル, ドウヒエネ
ドイツ連邦共和国ミュンヘン, 2, ガ
ーベルスベルガーシュトラッセ, 59
Fターム(参考) 4B024 AA13 BA53 BA61 CA03 DA06
EA03 GA11 HA15
4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ06 QQ08
QQ79 QR48 QR51 QR77 QR80
QS33
4H045 AA11 AA30 BA10 CA11 DA75
DA76 DA86 EA52 FA71 FA72
HA06